

**Zur Frage der Immunisierung von Mäusen
gegen Brucella-Abortus mit
Adsorbat-Impfstoffen**

Fritz Doh

Aus dem Institut für Tierhygiene der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Meyn

Zur Frage der Immunisierung von Mäusen gegen Brucella-

Abortus mit Adsorbat-Impfstoffen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Fritz D o h
Veterinärpraktikant
aus
Stuttgart

München 1958



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Z i p f

Referent: Professor Dr. A. M e y n

Tag der Promotion: 26. Februar 1958

Meiner lieben Mutter gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Besprechung der Literatur	2
1,0 Allgemeines über Brucellose	2
1,1 Definition	2
1,2 Morphologie des Erregers	2
1,3 Physiologie des Erregers	3
1,4 Pathogenität für kleine Versuchstiere	3
1,5 Pathogenese	4
2,0 Immunbiologisches Verhalten	5
3,0 Schutzimpfungen	7
3,1 Geschichtliches	7
3,2 Immunisierung mit vollvirulenten Kulturen	8
3,3 Immunisierung mit abgeschwächten Kulturen	9
3,4 Immunisierung mit abgetöteten Kulturen	10
III. Eigene Versuche	13
4,0 Vorversuche	13
4,1 Virulenzprüfung mit Hilfe der Katalaseaktivität	13
4,2 Virulenzprüfung im Tierversuch und Bestimmung einer letalen Dosis	14
4,3 Tastversuch	18
5,0 Hauptversuch	19
5,1 Methodik	19
5,2 Ergebnisse der Untersuchungen	19
IV. Diskussion	23
V. Zusammenfassung	25
VI. Literatur	26

I. Einleitung

In den letzten Jahren hat die Bekämpfung der Brucellose mehr und mehr an Bedeutung gewonnen. Grundsätzlich sind alle Haustierarten (Rind, Schaf, Ziege, Schwein, Pferd) für Brucellose empfänglich, und es ist außerdem eine Übertragung auf den Menschen möglich. Da die Übertragung auf den Menschen nur über das Tier erfolgt, nicht von Mensch zu Mensch, ist eine Bekämpfung der Tierbrucellosen schon aus Gründen der öffentlichen Gesundheit erforderlich. Außerdem verursacht die Brucellose aber auch noch empfindliche wirtschaftliche Verluste durch Aborte, Fruchtbarkeitsstörungen und Milchverluste.

Infolge Fehlens geeigneter therapeutischer Maßnahmen beschränkt sich die Bekämpfung der Seuche heute auf die Prophylaxe, die Ausmerzungen und die Schutzimpfung. Die Schutzimpfungen werden im allgemeinen stets mit Lebendimpfstoffen, die sich als am wirksamsten erwiesen haben, durchgeführt. Besonders in den letzten Jahren wurden in Deutschland nach dem Vorbild Amerikas planmäßige Jungtierimpfungen mit dem Stamm Buck 19 durchgeführt. Mit diesem Impfverfahren konnten ohne Zweifel Erfolge erzielt werden. Die Nachteile der Lebendimpfstoffe bestehen jedoch darin, daß durch sie Impfinfektionen möglich sind und daß außerdem der Tierarzt bei der Schutzimpfung selbst gefährdet ist. Dazu kommt, daß prophylaktische Impfungen in gesunden Beständen und Impfungen trächtiger Rinder nicht ratsam sind. Um diese Nachteile zu umgehen, wurden in neuerer Zeit verschiedene Brucella-Totimpfstoffe entwickelt, die teilweise gute immunogene Eigenschaften aufweisen.

Es war meine Aufgabe, zwei solcher Totimpfstoffe auf ihre immunisierende Wirkung im Mäuseversuch zu untersuchen.

II. Besprechung der Literatur

1,0 Allgemeines über Brucellose

1,1 Definition

Unter Brucellose versteht man Infektionskrankheiten bei Mensch und Tier, die von stäbchenförmigen bis kokkoiden Bakterien, den Brucellen, verursacht werden. Man unterscheidet 3 Typen von Brucellen: 1. Brucella melitensis, von B r u c e 1887 auf Malta als Erreger des Wechselfiebers beim Menschen entdeckt und wegen seiner kugeligen Gestalt zuerst "Mikrokokkus melitensis" bezeichnet. 2. Brucella abortus bovis, von B. B a n g im Jahre 1896 als Ursache des seuchenhaften Verkaltens der Rinder entdeckt, als Stäbchen beschrieben und zuerst "Bacillus abortus" benannt. 3. Brucella suis, 1915 von T r a u m als Erreger des seuchenhaften Verwerfens bei Schweinen ermittelt und wegen seiner ähnlichen biologischen Eigenschaften dieser Erregergruppe zugeordnet.

1,2 Morphologie des Erregers

Morphologisch stellen die Brucellen kleine, ovale bis kugelige Kurzstäbchen dar. Nach F r a h m und L e m b k e (18) ergaben elektronenmikroskopische Aufnahmen einen Durchmesser von $0,3\mu$ (gemessen an der breitesten Stelle) und eine Länge von $1 - 2\mu$. Die Brucellen kommen meist in Diploform vor. Keime aus raschwüchsigen Kulturen zeigen gewöhnlich eine größere und gleichmäßigere Massendichte als Keime aus langsam wachsenden Kulturen, welche eine feinkörnige Granulation erkennen lassen. F r a h m und L e m b k e (18) konnten elektronenmikroskopisch an Zellen aus langsam wachsenden Kulturen manchmal schlauchartige Sprosse feststellen, die sich durch Ultrafilter von der Mutterzelle trennen ließen. Diese Filtrate lassen sich nicht in ihre Stammform zurückführen und werden ob ihrer Formenkonstanz als Dauermodifikationen, sogenannte Minorformen, des Brucelloseerregers betrachtet.

Stark ausgeprägt ist der Formenwechsel (Dissoziation). Man unterscheidet S- und R-Formen, sowie M-Formen, deren Kultur von schleimiger Konsistenz ist und schleimige Agglutination mit Trypaflavin zeigt. Diese M-Formen sind noch weiter differenzierbar in M_1 -, M_2 -, M_3 -Formen. Außerdem gibt es noch Übergangsformen von der S- zur R-Form. Als Ursache für die Entstehung der Mutan-

ten werden nach F r a h m und L e m b k e (18) ungünstige Umweltverhältnisse (Populationsdruck) angenommen. Nach F r a h m und L e m b k e (18) befindet sich im Rinderblut eine die S-Form stabilisierende Komponente (in der Gamma-Globulinfraction des Serums). Bei Mäusen wurden Mutationen von S nach M festgestellt.

1,3 Physiologie des Erregers

An Fermenten ließen sich nachweisen die Glykophosphatase, die Adenosintriphosphatase, die Hefenukleinsäurephosphatase und die Katalase, dagegen keine Hydrolasen. Der Abbau der Kohlehydrate ist sehr inkonstant. Oxydation von einbasischen, gesättigten Fettsäuren ist besonders charakteristisch für *Brucella abortus*. Ein besonderes Kennzeichen der Brucellen ist das Vorkommen der Urease. Dieses bei Bakterien selten vorkommende Ferment scheint eine oxydo-reduktive Wirkung zu haben. F r a h m und L e m b k e (18) nehmen an, daß der mannigfache Formenwechsel in Zusammenhang mit der Urease steht. Sie wiesen nach, daß das Aureomycin die Ureaseaktivität steigert, während Patulin (Hydrochinon) sie hemmt und daß in Gegenwart von Aureomycin aus der S-Form die M-Form entsteht und bei Gegenwart von Patulin (Hydrochinon) die R-Mutante entsteht. Demnach besitzt die M-Form eine höhere Ureaseaktivität als die S-Form, die R-Form eine geringere Ureaseaktivität als die S-Form. Somit wäre also für die Entstehung von Mutanten eine Änderung der Ureaseaktivität notwendig. Die Katalaseaktivität steht nach S e e l e m a n n (42) in einem gewissen Zusammenhang mit der Virulenz. Die Widerstandsfähigkeit der Brucellen ist gering. Sie starben beim Pasteurisieren ab, ebenso lassen sie sich mit den gebräuchlichsten Desinfektionsmitteln vernichten. In eiweißreichen Medien, wie z.B. Fruchthüllen, Organen, Butter, Milch, Weichkäse bleiben sie mehrere Tage am Leben.

1,4 Pathogenität für kleine Versuchstiere

Die künstliche Infektion von Meerschweinchen erzeugt ein chronisches Krankheitsbild mit Veränderungen in der Milz (hochgradige Milzschwellung), einzelnen oder wenig deutlichen entzündlich-nekrotischen Herden in der Lunge, Leber, Niere und zum Teil auch Knochenaufreibungen. Bei Infektion mit *Brucella suis* wurde auch ein rascher tödlicher Verlauf beobachtet. Bei trächtigen Tieren ist Verwerfen möglich, und bei männlichen Tieren wurde Hodenentzündung beobachtet. Die entzündlichen Veränderungen sind nach 35 bis 60 Tagen ausgebildet, die Milzschwellung ist in der Regel schon nach

3 Wochen sichtbar. Serologische Reaktionen findet man von der 3. Woche an, manchmal auch schon nach 10 Tagen. Manche Stämme von *Brucella abortus* erzeugen bei Ratten und Mäusen eine tödliche Septikaemie (Tod innerhalb von 4 - 14 Tagen). Am geeignetsten für eine letale Infektion ist die Maus. Infolge der Kleinheit dieses Versuchstieres läßt sich bei ihr mit hochvirulenten *Brucella abortus*-Stämmen eine sichere tödliche Septikaemie erzeugen.

1,5 Pathogenese

Die natürliche Infektion geschieht über den Fütterungsweg, conjunctival, percutan, seltener beim Deckakt. Bei der Melitensis-Infektion des Menschen wurde als Ursache der Genuß von bakterienhaltiger Ziegenmilch ermittelt. Bei *Brucella abortus* soll der percutanen Infektion (hauptsächlich über Euter-Zitzen) die hauptsächlichste Bedeutung zukommen, denn Lembke und Körnle (29) konnten experimentell feststellen, daß die alimentäre Infektion beim Rind, wenn sie überhaupt angeht, nur ein schwaches Krankheitsbild verursacht, im Gegensatz zur percutanen Infektion. Über die Lymphbahnen gelangen die Erreger ins Blut (Lymphknotenschwellung als erstes Symptom nach künstlicher Infektion). Im Blut halten sich die Erreger 10 bis 21 Tage auf und erzeugen eine Bakteriamie. Der weitere Weg der Brucellen ist nun abhängig von der Art des Wirtes, und zwar muß man in diesem Zusammenhang nach Frahm und Lembke (18) primäre und sekundäre Wirte unterscheiden. Primäre Wirte sind solche, bei denen auf Grund ihres placentaren Baues der Austausch zwischen mütterlichem und fötalem Kreislauf mittelbar über ein retikuloendotheliales Gewebe erfolgt (Rind, Schaf, Ziege, Schwein). Bei sekundären Wirten fehlt ein derartiges Gewebe. Beim Pferd z.B. ist der mütterliche vom embryonalen Kreislauf vollständig epithelial getrennt, und beim Menschen liegen die Chorionzotten unmittelbar im mütterlichen Blut. Die Brucellen zeigen nun eine besondere Affinität zu diesem retikuloendothelialen Gewebe, und so kommt es, daß sich die Keime im trächtigen Uterus ansiedeln können, wo sie infolge des spezifischen anatomischen Baues besonders günstige Lebensbedingungen finden. Die entstehenden Veränderungen führen zu Abort und Retentio Secundinarum. Bei sekundären Wirten nehmen die Brucellen mit dem Reticuloendothel innerer Organe vorlieb und führen dort zu einer chronischen Erkrankung. Jungrinder verhalten sich nach der Infektion wie sekundäre Wirte. Erst im Falle einer Trächtigkeit wird der Uterus befallen. Nach dem Abort oder der Geburt verschwinden die Brucellen wieder aus dem Uterus und siedeln sich in Organen ab. Hierbei spielt das Euter, von dem aus eine ständige exogene und endogene Erregerstreuung erfolgt, eine besondere Rolle.

2,0 Immunbiologisches Verhalten

Die Tatsache, daß Kühe, die zweimal verworfen haben, selten ein drittes Mal verworfen, gab zu der Annahme Berechtigung, daß die Brucellen immunogene Eigenschaften besitzen. Über die Art der immunbiologischen Vorgänge im Organismus bei einer Brucella-Infektion sind die verschiedenen Autoren noch sehr geteilter Meinung. P a r n a s (33) teilt die immunisatorischen Vorgänge in 3 Stadien ein: Im 1. Stadium, unmittelbar nach der Infektion (nach Ablauf der Inkubationszeit), überwiegt die humorale Immunität, das heißt hier treten im Blut Antikörper auf (Agglutinine, Bakteriotropine, Opsonine). Agglutinationsreaktion und Komplementbindungsreaktion sind positiv. Im 2. Stadium verschwinden die serologisch nachweisbaren Antikörper, und die serologischen Reaktionen werden allmählich schwächer. Jetzt bilden sich zellständige Antikörper aus, die allergische Hautprobe wird positiv. Im 3. Stadium, auch chronisches Stadium bezeichnet, sind die humoralen Antikörper gänzlich verschwunden. Die serologischen Reaktionen sind negativ. Die allergischen Proben sind besonders deutlich ausgeprägt. P a r n a s (33) nimmt also an, daß mit den Erregern auch die Antikörper aus dem Blut verschwinden. Ein negativer serologischer Befund besagt dann also nur, daß keine Erreger mehr im Blut sind.

G ö t z e und W a g e n e r (22) sind der Ansicht, daß das Auftreten von Agglutininen bei einer Brucella-Infektion lediglich eine Begleiterscheinung ist, die wohl abhängig ist von der Gegenwart lebender Keime im Blut, doch sollen die Agglutinine keine eigentlichen Antikörper darstellen. Diese Eigenschaft soll anderen humoralen Zellen, nämlich den Opsoninen und den Bakteriotropinen, zukommen, die serologisch jedoch nicht erfaßbar sind.

F r a h m und L e m b k e (18) versuchen experimentell zu beweisen, daß die Immunität des Uterus nicht auf Serumantikörper zurückgeht, sondern an das Gewebe der Uterusmuskulatur gebunden ist. In einem Versuch zeigte ein virginales Uterushorn von einem Meerschweinchen, mit abgetöteten Brucella-Keimen in Berührung gebracht, rhythmische Kontraktionen, wenn jedoch die Aufschwemmung der abgetöteten Brucella-Keime zuvor dem Tier injiziert wurde und anschließend der Uterus wie oben behandelt wurde, zeigten sich keine Kontraktionen. Entblutung des Gewebes mit Ringerlösung zur Ausschaltung eventueller humoraler Antikörper änderte nichts. Es wird hier von einer spezifischen Desensibilisierung der Uterusmuskulatur gegenüber dem Endotoxin der Brucellen gesprochen, denn mit Histamin konnten noch Kontraktionen ausgelöst werden. Die Veränderungen am Uterus beruhen also lediglich auf einer

Veränderung der Adsorptionsfähigkeit für das Endotoxin. Der immunisatorische Vorgang bei der Brucellose besteht also in der Ausbildung einer Gewebsimmunität, in deren Verlauf die Erreger nicht abgetötet werden. Es wird nur die Empfänglichkeit der geeigneten Gewebe (Uterus) vermindert, die Erreger können somit wieder ausgeschieden oder auf andere Gewebe abgedrängt werden. R o l l e (37) berichtet 1932, daß nach dem Verschwinden der positiven Agglutinationsreaktion bei Meerschweinchen keine Brucellen mehr aus den Organen isoliert werden konnten, jedoch bei positiver Reaktion in den meisten Fällen. Ein Verschwinden der Agglutinine gehe also parallel mit dem Verschwinden der Brucellen aus dem Organismus einher. Er vermutet, daß die Immunität an das Vorhandensein lebender Keime gebunden ist.

F r a h m und L e m b k e (19) berichteten in neuerer Zeit, daß die Bildung humoraler Antikörper vom Gamma-Globulin-Typ, was die Voraussetzung für eine klassische Immunität sei, bei der Brucellose nicht vom Vorhandensein lebensfähiger Keime abhängig ist, sondern an bestimmte Antigenstrukturen gebunden ist. Sie unterscheiden beim Erreger der Brucellose Vollantigene, welche die Eigenschaft der Gamma-Globulin-Vermehrung besitzen, und Haptene, denen diese Eigenschaft fehlt. Die Begriffe Vollantigen und Hapten sind nicht absolut zu werten, denn es ist möglich, daß ein und dasselbe Antigen für eine Tierart als Hapten, für eine andere als Vollantigen wirkt. So sind beispielsweise die im Brucelloseerreger enthaltenen Antigene für das Rind Haptene, für andere Tierarten Vollantigene. Wenn die Möglichkeit besteht, Haptene in Vollantigene umzuwandeln, ist auch die Möglichkeit gegeben, beim Rind eine humorale Immunität zu erzeugen. Die Bedingungen für einen wirksamen Impfstoff wären demnach eine schonende Abtötung der Keime und die Aktivierung der Antigene. Nach elektrophoretischen Untersuchungen an Rinderseren von Tieren, die mit dem neuen Adsorbatimpfstoff (nach Lembke) immunisiert wurden, konnte eine echte humorale Immunität im klassischen Sinne (Gamma-Globulin-Vermehrung) festgestellt werden. Dies ist nach Angaben von F r a h m und L e m b k e (19) nicht der Fall bei natürlich durchseuchten und mit Lebendimpfstoffen behandelten Rindern.

3,0 Schutzimpfungen

3,1 Geschichtliches

Die ersten Schutzimpfungsversuche wurden von B a n g (2) ausgeführt. Er impfte intravenös Brucella-Kulturen in Form eines Pferdeserum enthaltenden Impfstoffes. Dabei traten heftige Schockwirkungen auf und Fieber (Serum), doch ließen sich die lokalen Erscheinungen, wie sie nach s.c. und i.m. Injektion auftraten, vermeiden (Abszesse und Schwellung). Die Heilerfolge waren wohl in erster Linie der Fieberwirkung zuzuschreiben, denn es wurden später auch mit anderen fiebererzeugenden Mitteln, wie z.B. dem von H a u s - m a n n (25) entwickelten Febrilat (ein Lipoidextrakt von Salmonellen), oder der Typhus-Paratyphus-Vaccine von E r w i n und H u n t (16) bei i.v.Verabreichung Heilerfolge erzielt. In der Humanmedizin wurde bis vor wenigen Jahren noch die i.v. Vaccinetherapie verwendet, die sich in der Tiermedizin nicht durchsetzen konnte. Vielfach wurde abgetöteten Impfstoffen eine immunogene Eigenschaft überhaupt abgesprochen. So stellte S t r i b o l t (3) bereits im vorigen Jahrhundert fest, daß lebende Keime ein größeres Immunisierungsvermögen besitzen als abgetötete. B a r n e s (4) wiederum fand, daß sowohl lebende als auch tote Impfstoffe unwirksam sind (1925). 1927 wird von S a c e g h a n (39) von einer wirksamen Formolvaccine berichtet. G i l t n e r und Mitarbeiter (21) fanden einen meerschweinchenpathogenen Stamm, mit dem sie gute Impferfolge erzielten. 1931 berichteten F r e n z e l und S z y m a n o w s k i (20), daß nur S-Formen zur Bereitung von Impfstoffen geeignet seien. Zu dieser Zeit führten bereits B u c k und C o t t o n (7) den schwachvirulenten Stamm "Amerika 19" (Buck 19) ein. T h o m s o n (45) führte 1932 Immunisierungsversuche am Rind auf intrauterine Art durch. S t e i n (43) empfiehlt 1933 für die Humanmedizin Autovaccine. A l b i e n (1) empfiehlt für die Tiermedizin stall- oder gegendsspezifische Impfstoffe. R o l l e (38) erzielte gute Impferfolge mit einer Chinosolvaccine. D u b o i s (15) stellte eine Vaseline-Lanolin-Depotvaccine her. Von einem Stamm, der keine Agglutinine erzeugt, berichtet K i t z e l m a n n 1935 (28). K r e s s (27) berichtet über gute Ergebnisse mit einer Formolvaccine, die dann auch im Jahre 1938 in Österreich amtlich eingeführt wurde. V e l u und Z o t t n e r (48) stellten Versuche an mit lebenden Keimen in Lanolinkapseln. 1938 wurde von D e m n i t z (12) eine avirulente Kultur als für die Immunisierung geeignet gefunden. R o m a n (35) verwendet mit Erfolg 1939 einen apathogenen Abortus Stamm und Glykolipoidextrakte einer Brucella-melitensis Kultur zur Herstellung

einer gut immunisierenden Vaccine. C a t a l a n o (10) stellte 1939 eine Fettvaccine her. L i s b o n n e (30) erzielte mit einer Depotvaccine, die Keime hoher Virulenz enthielt, keine immunisierende Wirkung. M c E w a n (17) verwendete 1942 einen Impfstoff aus der R-Form eines schwachvirulenten Stammes 45, der keine agglutininogene Eigenschaft besaß. V e r w e y und S c h e i d y (47) stellten 1946 eine lyophilisierte Vaccine aus Stamm 19 her, durch Trocknung der Keime in der Eisphase. Man erhält dadurch lebende, haltbare Bakterien in Pulverform, die kurz vor der Injektion aufgelöst werden. C a m p b e l und R o d w e l l (9) fanden, daß durch Injektionen am Schwanz mit wesentlich geringeren Dosen derselbe Impfschutz erzielt wird wie bei s.c. Injektionen an anderen Körperstellen. 1948 impfte P r e s k o t t (34) mit Keimen einer mucoiden Wachstumphase. In den letzten Jahren wurden in Deutschland zur Brucellosebekämpfung Lebendkulturen verwendet. Schwachverseuchte und gefährdete Bestände wurden mit Stamm X oder Buck 19 (Amerika 19), einer schwachvirulenten Brucella abortus Kultur, geimpft. In stark verseuchten Beständen wurde auch der mittelgradig-virulente Stamm Langenhagen verwendet.

3,2 Immunisierung mit vollvirulenten Kulturen

Die Immunisierungsversuche mit vollvirulenten Keimen gehen von der Vorstellung aus, daß die immunogenen Eigenschaften der Brucellen an ihre Virulenz gebunden sind und daß zur Erzeugung einer dauerhaften Immunität ein längeres Verweilen der Keime im Organismus notwendig ist. Die Gefahren, die in diesem Impfverfahren liegen, sind in Anbetracht der besonderen immunbiologischen Verhältnisse offenbar. Viele Veröffentlichungen weisen darauf hin, daß mit derartigen Impfstoffen behandelte Tiere noch lange Zeit Keimträger sein können, ja sogar als Ausscheider zur Verbreitung der Seuche beitragen können. Auch bei den Impfungen selbst können Schäden auftreten. So wurden im Anschluß an Impfungen bei Rindern pathologische Veränderungen an den Fruchthüllen beobachtet, die der Grund dafür waren, daß die Kälber nach der Geburt an Schwächezuständen und septikämischen Erkrankungen eingingen. Eine häufige Folge waren auch Uterusentzündungen mit Sterilität und Gelenkentzündungen. L e m b k e und K ö r n l e i n (29) konnten bei nichtgeimpften Tieren eine Infektion mit einem Impfstamm feststellen, und sie weisen darauf hin, daß mit diesem Impfverfahren eine systematische Verbreitung der Impfstämme verbunden ist. Außerdem stellen die geimpften Tiere eine Gefahr für den Menschen dar. H a r t und C a r p e n t e r (23) berichten 1923 von Sterilität als Folge von Lebend-Impfungen. C o m i n o t t i (11) schreibt 1931, daß geimpfte

Rinder nach 2 Jahren Brucellen ausschieden. C a l d w e l l und Mitarbeiter (8) stellen eine Zunahme der Fälle von Retentio Secundinarum bei Rindern fest. N i e l s e n und P e d e r s o n (32) sahen Euterinfektionen nach Lebendimpfungen. Nach B i r c h und H u d d l e s o n (6) reicht der Impfschutz bei Kälbern nicht immer bis zur Trächtigkeit.

3,3 Immunisierung mit abgeschwächten Kulturen

Um den Gefahren, die mit der Schutzimpfung mit vollvirulenten Kulturen verbunden sind, aus dem Wege zu gehen, wurden Impfverfahren mit abgeschwächten Kulturen ausgearbeitet. Vor allem hat sich in den letzten Jahrzehnten der Impfstoff Buck 19 durchgesetzt. Dies ist ein alter Laborstamm, von Buck in den U S A entdeckt, mit geringer Virulenz. Doch auch bei Verwendung dieses Stammes sind die Erfolge noch sehr umstritten und zweifelhaft. S c h i n d l e r (44) berichtet, daß mit abgeschwächten Kulturen der Brucellen nur ein relativer Schutz zu erzeugen ist, und daß die immunogenen Eigenschaften der Brucellen abhängig sind vom Kolonietyp und von der Lebensfähigkeit der Keime. Erwachsene Tiere können wegen des andauernden Bluttiters bzw. der Gefahr des Verwerfens bei sich unmittelbar anschließender Trächtigkeit nicht geimpft werden. Die Wirkung der Schutzimpfung wird von verschiedenen Faktoren abhängig gemacht wie Infektionsgrad, Virulenz des Impfstammes, Immunitätsreaktion des einzelnen Tieres.

Nach W H O (49) gibt eine einmalige Schutzimpfung mit Buck 19 einen genügenden Schutz über 5 Trächtigkeitsperioden hinaus. Der Impfstoff muß dazu aus lebenden, undissoziierten Keimen bestehen. Bei Schaf und Ziege soll Buck 19 unwirksam sein. In Amerika werden zur Impfung mit Buck 19 60 Milliarden Keime pro Rind auf einmal geimpft, in Deutschland 20 bis 30 Milliarden auf zweimal. Als günstigstes Impfalter wird der 7. bis 10. Monat angegeben. Bei den geimpften Tieren soll der Impftiter nach 3 bis 12 Monaten verschwinden. Bei älteren Tieren würde der Impftiter unbegrenzt andauern. D i e r n h o f e r (14) schreibt, daß der beste Impfstoff nicht mehr leisten kann als eine natürliche Infektion. Da aber eine natürliche Durchseuchung keine verlässliche Immunität hinterläßt, soll auch eine Impfung nicht verhindern können, daß bei einer späteren Ansteckung Brucellen bei der Geburt ausgeschieden werden.

S e e l e m a n n (40) berichtet, daß in Holland schon 1920 mit einem schwachvirulenten Stamm an 6 bis 8 Monate alten Kälbern erfolgreiche Immunisierungs-

versuche gemacht wurden und daß Buck und seine Mitarbeiter 1924 in den U S A Kälber und später Jungtiere im Alter von 6 bis 8 Monaten impften. R o a d - h a u s und H e n d e r s o n (zit. nach 31) finden, daß die Kälberimpfung mit Buck 19 einen bis zur 2. bis 3. Trächtigkeitsperiode reichenden Schutz verleiht. Bei trächtigen Tieren soll sich der Impfstoff in den ersten 3 Trächtigkeitsmonaten ohne Gefahr verwenden lassen. Wenige Monate nach der Impfung mit Buck 19 sollen sich aus den Organen keine lebenden Keime mehr isolieren lassen.

M i c h e l l und M o o r e (zit. nach 40) brachten vaccinierte Rinder mit ungeimpften Tieren zusammen und konnten dabei keine Ansteckung beobachten. Das Trächtigkeitsstadium spielte dabei keine Rolle. L e m b k e, A r n d t und K ö r n l e i n (zit. nach 40) bezeichnen derartige Erfolge als Ausnahmefälle.

Nach C o l e m a r und G r a y o n (zit. nach 26) ist eine Infektion des Tierarztes mit Buck 19 möglich. D i e r n h o f e r (14) schreibt, daß Buck 19, namentlich für den Menschen, nicht ungefährlich ist. Nach M i n g l e (31) verleiht Buck 19 weder Ziegen noch Schweinen einen ausreichenden Schutz gegen *Brucella melitensis* bzw. *Brucella suis*. S e e l e m a n n (41) konnte bei keiner von 108 Kühen nach Impfung mit Buck 19 Ausscheidung von Brucellen übers Euter feststellen. Mit einem künstlich abgeschwächten Stamm (Stamm X) immunisierte er Mäuse. Zwischen Immunisierungsvermögen des Impfstoffes und Virulenz bestand keine Parallele. Die Lebendimpfstoffe haben trotz ihrer Gefährlichkeit eine starke Verbreitung gefunden, denn es ist mit ihrer Hilfe gelungen, die Verkalberate in infizierten Beständen herabzusetzen. So erzielten z.B. B e r n a m, B e a c h und I r w i n (5) bei im Alter von 8 bis 20 Monaten geimpften Rindern eine Verkalberate von 19 bis 21 %, während die nichtgeimpften Kontrollen zu 66 % verkalbten.

3,4 Immunisierung mit abgetöteten Kulturen

In der Absicht, die Nachteile der Lebendimpfstoffe zu vermeiden, wurden die verschiedensten Totimpfstoffe entwickelt. Die Literatur berichtet von vielen *Brucella*-Totvaccinen, die teils erfolgreich, teils wirkungslos waren (Farbstoffvaccine, Formolvaccine, fettemulgierte Vaccine u.a.). R o l l e (36) schreibt, daß die Zellen des trächtigen Uterus durch totes Antigen stimuliert und immunisiert werden können. Er empfiehlt für die Immunisierung trächtiger Rinder eine Totvaccine, zieht jedoch für die Jungtierimpfung Buck 19 vor. Nach G ö t z e und W a g e n e r (22) ist mit totem Antigen keine Immuni-

tät zu erzeugen, wobei die Abtötungsart der Brucellakeime ohne Bedeutung sei. Außerdem betonen sie, daß die Totvaccinen keineswegs unschädlich seien, sondern daß das tote Antigen, besonders bei infizierten Tieren, eine Sensibilisierung des Organismus sowie allergische Erkrankungen und Reaktionen verursachen und schließlich zum Abort führen kann. In neuerer Zeit konnten sich verschiedentlich Brucella-Adsorbatimpfstoffe behaupten (an Aluminium-Hydroxyd adsorbiertes, abgetötetes Antigen), und die Literatur berichtet von verschiedenen erfolgreichen Immunisierungsversuchen mit derartigen Impfstoffen.

T r a u b (46) stellte 1948 von nichtdissoziierten, durch Formalin abgetöteten Brucella abortus-Kulturen Adsorbatvaccinen her und untersuchte sie an Mäusen auf ihre immunogenen Eigenschaften und auf ihre Unschädlichkeit. Mit 9 Vaccinen aus 4 verschiedenen Brucella abortus-Stämmen immunisierte er Mäuse zweimal im Abstand von 10 Tagen subcutan. Die Testinfektion erfolgte 14 Tage später intrathorakal mit einem mäusepathogenen Stamm, dessen Virulenz durch Serienpassagen gesteigert worden war. Die Sterbeziffer betrug bei den vaccinierten Mäusen im Durchschnitt 5 %, bei den Kontrollen 77 %. Bei durchseuchten Mäusen traten nach intrathorakaler Reinfektion keine Sterbefälle auf. Jungmäuse erkrankten rascher, waren daher auch schwieriger zu immunisieren. Die Überlebenden wurden 14 Tage nach der Testinfektion auf den Keimgehalt untersucht. Dabei wurden in 46 - 81 % der Fälle Brucellen in den Organen ermittelt. Bei den Kontrollen wurden sie in 100 % der Fälle gefunden. Die Dauer der Immunität wurde nicht festgestellt. T r a u b (46) betont, daß zur Herstellung einer wirksamen Adsorbatvaccine ein Stamm mit einer besonderen Antigenstruktur verwendet werden muß. 1949 entwickelte H a u s m a n n (24) aus mehreren ausgewählten Brucella abortus-Stämmen einen Adsorbatimpfstoff. In Mäuseversuchen konnte er mit diesem Impfstoff gute Erfolge erzielen. Er konnte Mäuse gegen eine letale Infektion schützen und eine Gewichtabnahme der Tiere verhindern. Beim Rind, Schaf und bei der Ziege stellte er bereits 5 Tage nach der Impfung phagozytosefördernde, spezifische Tropine fest. H a u s m a n n (24) macht die Wirkung seiner Adsorbatvaccine abhängig von der Auswahl einer geeigneten Kultur und der Art der Keimanreicherung.

F r a h m und L e m b k e (19) entwickelten 1954 einen Adsorbatimpfstoff, der bezüglich seiner Herstellungsart eine Besonderheit aufweist. Er geht von den Vorstellungen aus, daß die immunogenen Eigenschaften der Brucellen auf der genuinen Struktur des Antigens beruhen und daß für eine echte humorale Antikörperbildung vom Gamma-Globulin-Typ auch eine bestimmte Antigenstruk-

tur verantwortlich sein soll. Bei der Gewinnung seiner Vaccine benutzte er daher schonende Abtötungs- und Behandlungsverfahren, mit denen es möglich war, die immunogenen Strukturen des Antigens zu erhalten und eine Aktivierung der Antigene zu erzielen. In der Vorprüfung an der Maus konnte er einen 90 bis 100%igen Schutz gegen eine letale Infektion erzeugen, während die mit Buck 19 behandelten Vergleichsgruppen nur zu 80 %, die nichtimmunisierten Kontrollen zu 10 % überlebten. Die Wirksamkeit dieser Vaccine wurde auch am Rind geprüft. Durch elektrophoretische Messungen konnte teilweise eine beträchtliche Gamma-Globulin-Vermehrung im Serum festgestellt werden, die nach F r a h m und L e m b k e (19) weder bei einer natürlichen Durchseuchung noch bei einer Immunisierung mit Lebendimpfstoffen vorkommen soll. Die immunisierenden Eigenschaften des Impfstoffes zeigten sich auch an Mäusen, die mit Serum schutzgeimpfter Rinder behandelt worden waren. Bei Rindern konnte die Verkalberate auf 7 % herabgesetzt werden. Aus der Placenta ließen sich in keinem Fall Brucellen isolieren.

III. Eigene Untersuchungen

Meine Aufgabe war es, im Mäuseversuch die immunisierenden Eigenschaften von

1. Abortus Bang-Adsorbatimpfstoff "Warthausen"
2. Abortus Bang-Adsorbatimpfstoff "Lembke"
3. Abortus Bang-Lebendimpfstoff "Buck 19"

zu prüfen.

4,0 Vorversuche

4,1 Virulenzprüfung mit Hilfe der Katalaseaktivität

Zunächst suchte ich aus den mir zur Verfügung stehenden Abortus Bang-Stämmen einen für eine Testinfektion geeigneten Stamm aus. Ich prüfte 10 Stämme auf ihre Katalaseaktivität, die nach Seemann (42) ein Gradmesser für die Virulenz ist.

Methodik:

5 ml einer 3 Tage bebrüteten Leberbouillon wurden jeweils mit 5 ml unbeimpfter Bouillon im Gärröhrchen versetzt. Nachdem noch 5 ml Wasserstoffsuperoxyd zugesetzt wurde, sind die Röhrchen sofort mit einem Gummistopfen, der eine Kapillare enthielt, geschlossen und umgekehrt in ein Reagenzglas gestellt worden. Durch die im positiven Falle einsetzende Gasbildung trat entsprechend der gebildeten Gasmenge Flüssigkeit in das Reagenzglas über. Nach 40 Minuten wurde die Höhe der Flüssigkeitssäule im Reagenzglas, die als Maß für die Katalaseaktivität galt, in mm gemessen.

Ergebnisse:

Folgende Werte sind für die entsprechenden Stämme ermittelt worden.

<u>Stamm</u>	<u>Höhe der Flüssigkeitssäule in mm</u>
Bang I 175	5
Bang Egers	11
Bang Fraenkel I	15
Buck 19	24
45/20	29
Bang 1109	29
Bang I 254	26
Bruc. Abort. 1119	30
1557/254	30
Bang 1157	37

Der Stamm Bang 1157 zeigte somit die größte Katalaseaktivität.

Seine Virulenz für Mäuse wurde in folgenden Versuchen geprüft.

4,2 Virulenzprüfung im Tierversuch und Bestimmung der letalen Dosis

Die Stämme 1557/254 und Bang 1157, die beide eine hohe Katalaseaktivität besaßen, wurden, im Vergleich mit dem Stamm Bang I 175, der die geringste Katalaseaktivität zeigte, an Mäusen auf ihre Virulenz geprüft.

Methodik:

Ich verwendete pro Stamm 8 Mäuse, und zwar je 2 für eine Keimzahl. Die Infektion erfolgte intraperitoneal mit Abschwemmungen 48-stündiger Schrägagarkulturen. Die Keimzahl bestimmte ich mit der Mikro-Zählkammer nach Thoma. Hierfür schwemmte ich eine 48-stündige Schrägagarkultur in 3 ml physiologischer NaCl-Lösung ab und legte hiervon verschiedene Verdünnungen an. Bei den Verdünnungen zählte ich mit der Thomakammer im Phasenkontrast die Keime aus und berechnete mit den erhaltenen Werten die in 1 ml enthaltene Anzahl von Keimen. Außerdem wurden für die Verdünnungen die Lichtadsorptionsgrade mit dem Lange'schen Universalkolorimeter (Kolorimetergrade) gemessen. In den späteren Versuchen wurde dann die Keimzahl an Hand der Kolorimetergrade ermittelt, da das Auszählen mit der Mikrozahlkammer bei der Kleinheit der Brucellen äußerst mühevoll ist.

Ergebnisse:

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in den Tabellen I, II und III zusammen-

mengestellt worden.

Tabelle I

Virulenzprüfung des Stammes

Bang I 175

Gewicht d. Mäuse	Keimzahl	Reaktion	Sektions- befund	Bakteriol. Befund
18	4×10^9	+ n.15 T.	Milz- & Leb. Tumor	Org. +
17	" "	+ n.20 T.	" "	" +
17	3×10^9	getöt. n. 6 Wochen	" "	" +
18	" "	" "	" "	" +
16	2×10^9	" "	negat.	negat.
15	" "	" "	"	"
17	1×10^9	" "	"	"
14	" "	" "	"	"

Erklärung der Zeichen:

+ n. 15 T. = nach 15 Tagen gestorben

Org. + = aus sämtlichen inneren Organen konnten
Brucellen isoliert werden.

Tabelle II

Virulenzprüfung des Stammes
1557/254

Gewicht d. Mäuse	Keimzahl	Reaktion	Sektions- befund	Bakteriol. Befund
15	3×10^9	+ n. 26 T.	Milz & Leb. Tumor	Org. +
15	" "	+ n. 30 T.	" "	" +
13	$1,5 \times 10^9$	+ n. 5 Wo.	" "	Milz +
14	" "	" "	" "	" +
12	$0,7 \times 10^9$	" "	" "	" +
11	" "	" "	" "	" +
10	$0,3 \times 10^9$	getöt. n. 6 Wochen	" "	" +
10	" "	" "	" "	" +

Erklärung der Zeichen:

+ n. 26 T. = siehe Tabelle I
 Org. + = " " I
 Milz + = aus der Milz konnten Brucellen isoliert
 werden.

Tabelle III

Virulenzprüfung des Stammes
Bang 1157

Gewicht d. Mäuse	Keimzahl	Reaktion	Sektions- befund	Bakteriol. Befund
17	4×10^9	+ n. 3 T.	Milz & Leb. Tumor	Org. +
15	" "	+ n. 8 T.	" "	" +
16	2×10^9	+ n. 5 T.	" "	" +
16	" "	+ n. 2 T.	" "	" +
15	1×10^9	+ n. 5 T.	" "	" +
14	" "	+ n. 10 T.	" "	" +
12	$0,5 \times 10^9$	+ n. 25 T.	" "	" +
12	" "	+ n. 19 T.	" "	" +

Erklärung der Zeichen: Siehe Tabelle I.

Am virulentesten zeigte sich der Stamm Bang 1157, am schwächsten Bang I 175. Bei Bang 1157 starben die Tiere bereits bei einer Keimzahl von 1×10^9 pro Tier innerhalb weniger Tage, während beim Stamm 1157/254 auch bei einer Keimzahl von 3×10^9 die Tiere nur allmählich eingingen, beim Stamm Bang I 175 überstanden die Mäuse eine Infektion mit einer Keimzahl von 3×10^9 , erst bei 4×10^9 Keimen pro Tier war eine, jedoch sehr schwache letale Wirkung zu erzielen.

Die Ergebnisse lassen somit eine gewisse Beziehung zwischen Virulenz und Katalaseaktivität erkennen.

Auf Grund dieser Ergebnisse wurde die Testinfektion in den folgenden Versuchen mit dem Stamm Bang 1157 und einer Keimzahl von 1×10^9 durchgeführt.

Die gestorbenen und die 6 Wochen nach der Infektion getöteten Tiere wurden

zerlegt, pathologisch-anatomisch und bakteriologisch untersucht. Zur bakteriologischen Untersuchung wurde Difco-Tryptoseagar verwendet. Die gewachsenen Kolonien wurden zur Sicherung der Diagnose mit positivem Bangserum auf ihre Agglutinabilität geprüft.

4,3 Tastversuch

Methodik:

Ich prüfte zunächst die Wirkung der 3 Impfstoffe an je 20 Mäusen. Die Mäuse wurden 2 x im Abstand von 10 Tagen mit den 1:100 verdünnten Impfstoffen s.c. an der Bauchhaut geimpft. Die Impfmenge betrug 0,5 ml pro Tier. Die Mäuse hatten ein durchschnittliches Gewicht von 18 - 22 gr. Vor der Testinfektion starben bei der Gruppe Lembke 5 Mäuse, bei der Gruppe Warthausen 2 Mäuse an unspezifischen Erkrankungen (Fütterungsnoxen ?). Die Testinfektion erfolgte 14 Tage nach der letzten Immunisierung i.p.₉ mit einer 48-stündigen Kultur vom Stamm Bang 1157. Die Keimzahl betrug 1×10^9 .

Ergebnisse:

Die Ergebnisse sind in Tabelle IV zusammengestellt worden.

Tabelle IV

Impfstoff	Zahl der Mäuse bei Testinfekt.	Zahl der lebenden Mäuse 14 T. nach d. Infektion	Bakteriol. Untersuchg. nach 6 Wochen	Überlebensrate in %
Lembke	15	12	Milz +	80 %
Warthausen	18	17	"	95 %
Buck 19	20	18	"	90 %
Kontrolle	20	7	"	35 %

Die geimpften Mäuse reagierten nur vereinzelt auf die Testinfektion, waren also zu einem hohen Prozentsatz geschützt, während die Kontrollen bereits 1 Tag nach der Infektion ein stark gestörtes Allgemeinbefinden zeigten und zum größten Teil (65 %) innerhalb 14 Tagen starben.

Bei der Sektion der verendeten Mäuse zeigten sich bei schutzgeimpften Tieren und bei Kontrollen Milz- und Leberschwellungen sowie vereinzelte Nekroseherde in der Leber. Bakteriologisch konnte ich aus allen Organen Brucellen isolieren. Bei den überlebenden Mäusen, die 6 Wochen nach der Testinfektion getötet und bakteriologisch untersucht worden waren, konnten ebenfalls in allen Fällen in der Milz Brucellen nachgewiesen werden.

5,0 Hauptversuch

5,1 Methodik

Es wurden 50 Mäuse pro Impfstoff und 50 Kontrollen verwendet. Um nach Möglichkeit Tiere mit annähernd gleicher Reaktionslage und gleicher Qualität (Alter, Gewicht, Ernährungszustand) zu haben, wurden Mäuse von einem Inzuchtstamm (Rockefeller-Stamm) verwendet. Das Gewicht der Tiere betrug durchschnittlich 18 bis 20 gr., das Alter 3 bis 4 Monate. In die Versuchsgruppen wurden je zur Hälfte männliche und weibliche Tiere genommen. Die Versuchsanordnung war dieselbe wie beim Tastversuch.

5,2 Ergebnisse der Untersuchungen:

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tabelle V zusammengestellt worden.

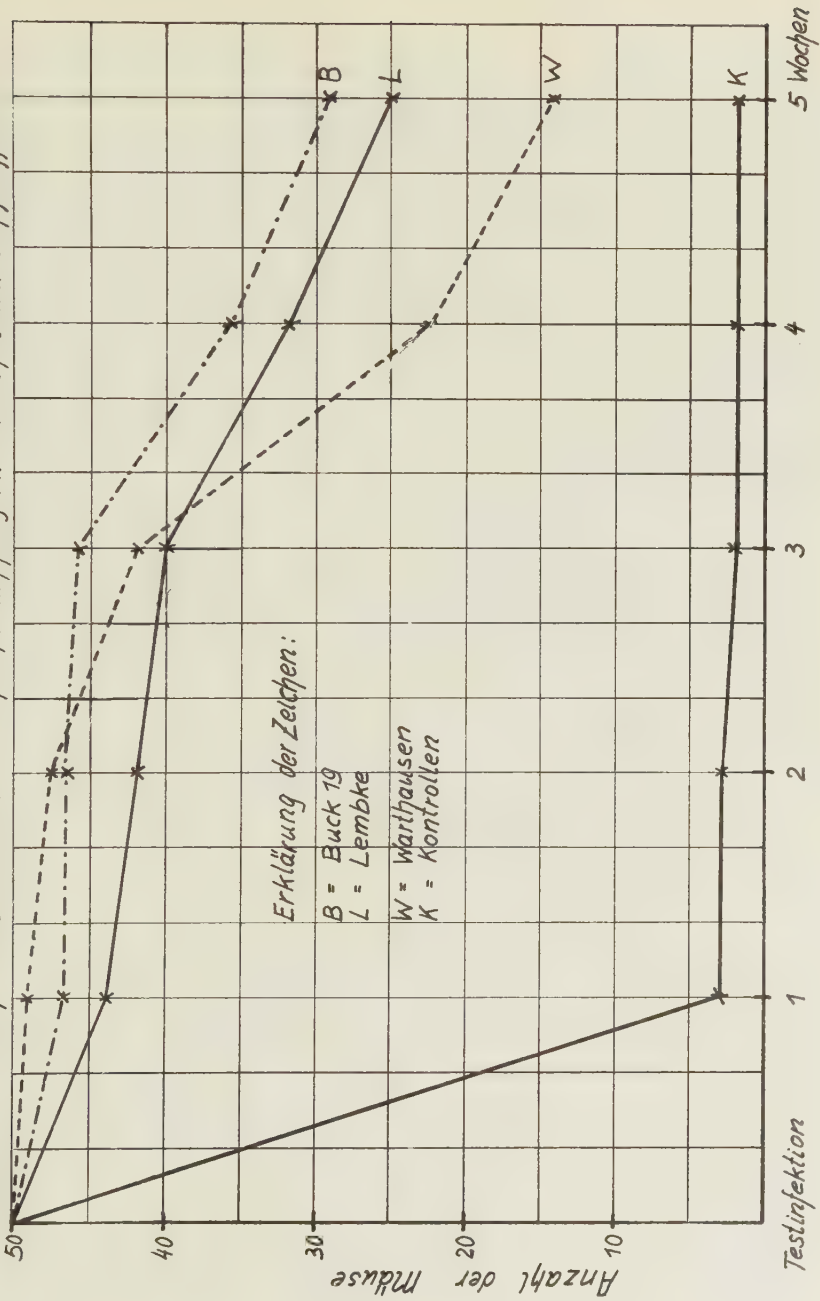
Der Verlauf der Versuche ist aus Abb. 1 ersichtlich.

Tabelle V

Zusammenstellung der Ergebnisse des
Hauptversuchs

	Lembke	Warthausen	Buck 19	Kontrollen
Zahl der Mäuse bei der Testinfektion	50	50	50	50
Zahl der lebenden Mäuse				
nach 1 Wo.	44	49	47	3
" 2 "	42	48	47	3
" 3 "	40	42	46	2
" 4 "	32	23	38	2
" 5 "	25	14	29	2
Überlebensrate in %				
nach 1 Wo.	88	98	94	6
" 2 "	84	96	94	6
" 3 "	80	84	92	4
" 4 "	64	46	76	4
" 5 "	50	28	58	4

Abb. 1 Verlauf der Absterbekurve nach Schutzimpfung mit 3 verschiedenen Impfstoffen



Die Kontrollen zeigten bereits einen Tag nach der Testinfektion Krankheitserscheinungen. Der größte Teil der Tiere starb vom 2. bis 6. Tag. Die Schutzgeimpften Tiere dagegen zeigten in den ersten Wochen ein ungestörtes Allgemeinbefinden. Verluste traten nur vereinzelt ein. 3 Wochen nach der Testinfektion waren bei der Gruppe Lembke noch 40 Mäuse am Leben (80 %), bei der Gruppe Warthausen 42 (84 %), bei Buck 19 46 (92 %) und bei der Kontrollgruppe nur noch 2 Mäuse (4 %). Nach 4 Wochen war die Zahl der Überlebenden bei Lembke 32 (64 %), bei Warthausen 23 (46 %), bei Buck 19 38 (76 %), bei den Kontrollen 2 (4 %). 5 Wochen nach der Testinfektion lebten bei der Gruppe Lembke noch 25 Tiere (50 %), bei Warthausen 14 (28 %), bei Buck 19 29 (58 %) und bei den Kontrollen 2 (4 %). Die gestorbenen Tiere zeigten bei der Sektion eine geringgradige Milzschwellung. Aus den Organen (Milz, Leber, Herz, Niere) konnte ich stets Brucellen isolieren.

6 Wochen nach der Testinfektion tötete ich sämtliche Überlebenden Mäuse und untersuchte sie. Alle Tiere hatten eine hochgradige Milzschwellung und enthielten lebende Keime in der Milz. Bei je 2 Tieren von den verschiedenen Gruppen wurden Keimzahlbestimmungen durchgeführt. Hierzu schwemmte ich gleiche Gewichtsteile der Milz mit 3 ml physiologischer Na-Cl-Lösung auf und zerrieb das Ganze zu einer homogenen Masse. Verdünnungen hiervon wurden auf Difco-Nährböden ausgegossen und nach 2-tägiger Bebrütung ausgewertet. Es ergaben sich folgende Keimzahlen für 1 ml der Aufschwemmung:

Bei den <u>Kontrollen</u> :	3 200 000	Keime
bei Adsorbat-Impfstoff		
<u>Warthausen</u> :	940 000	"
bei Adsorbat-Impfstoff		
<u>Lembke</u> :	860 000	"
bei Lebendimpfstoff		
<u>Buck 19</u> :	500 000	"

IV. Diskussion

Bei den Immunisierungsversuchen gegen Brucellose macht die Testinfektion gewisse Schwierigkeiten, denn eine Infektion, wie sie annähernd einer natürlichen entspräche, führt bei Versuchstieren (Maus) zu keiner oder zu keiner erkennbaren Erkrankung. Für eine letale Infektion, wie sie eigentlich nur bei der Maus durchzuführen ist, sind daher unnatürlich hohe Keimzahlen erforderlich sowie auserlesen virulente oder künstlich virulenzgesteigerte Stämme. Hierdurch ist es aber andererseits leicht möglich, daß eine vorhandene Immunität durchbrochen wird und das Bild verwischt. In meinen Versuchen blieben die Impflinge 3 Wochen lang nach der Testinfektion zu einem hohen Prozentsatz am Leben. Erst von der 4. Woche ab zeigte sich ein Nachlassen des Impfschutzes. Es ist wahrscheinlich, daß es sich dabei um einen nachträglichen Immunitätsdurchbruch infolge der hohen Keimzahl bei der Infektion handelt. Durch die Schutzimpfung wurde der Organismus zur Antikörperbildung angeregt. Bei der Testinfektion nach 14 Tagen waren die immunisierten Mäuse daher in der Lage, einen großen Teil der Keime unschädlich zu machen und dadurch die akute Bakteriamie mit letalem Ausgang zu verhindern, an der die Kontrollen fast ausnahmslos eingingen. Infolge der hohen Injektionsdosis wurden aber nicht alle Keime vernichtet. Es konnte zwar nicht zu einer tödlichen Bakteriamie kommen, wohl aber noch zu einer chronischen Organerkrankung. Das zeigte sich in der Tatsache, daß alle schutzgeimpften Tiere nach 6 Wochen eine deutliche Milzschwellung und lebende Brucellen in der Milz aufwiesen. Bei einem weiteren Nachlassen des Impfschutzes können sich die Brucellen dann unter Umständen auch wieder stark vermehren, was zu einer nachträglichen tödlichen Bakteriamie führen kann.

Der Abfall des Impfschutzes zeigt bei den verschiedenen Gruppen eine Ungleichheit. Die Gruppe Warthausen besitzt zu Anfang eine gute Immunität, nach 14 Tagen ist hier die Überlebensrate am größten (96 %). In den folgenden Wochen kommt es jedoch gerade hier zum stärksten Abfall. Ich erkläre das damit, daß der Impfstoff Warthausen sehr gute immunogene Eigenschaften besitzt, was der anfänglich hohe Immunitätsgrad der Mäuse erweist, daß aber das Antigen relativ früh wieder ausgeschieden wird und die weitere Antikörperbildung aufhört. Die Gruppe Lembke besitzt nach 14 Tagen noch 84 % überlebende Tiere, ist also hier an 3. Stelle, nach 4 bzw. 5 Wochen jedoch an 2. Stelle. Das ist meines Erachtens ein Zeichen für eine protrahierte Antikörperbildung und eine langsamere Ausscheidung des Antigens. Die Depotwir-

kung scheint größer zu sein als beim Adsorbatimpfstoff Warthausen. Bei der mit Buck 19 immunisierten Gruppe ist die Überlebensrate nach 14 Tagen am zweitgrößten (94 %). Im weiteren Verlauf bleibt der Impfschutz jedoch besser erhalten als bei den Totimpfstoffen. Die Überlebensrate nach 4 bzw. 5 Wochen ist hier am höchsten. Die lebenden Keime des Impfstoffes sind offensichtlich in der Lage, die Antikörperbildung längere Zeit in Gang zu halten.

Infolge der besonderen Verhältnisse bei Mäuseversuchen, in denen mit hohen Keimengen gearbeitet wird, erscheint es mir zweckmäßig, für die Prüfung der immunogenen Eigenschaften von Impfstoffen lediglich die Reaktion der Impflinge bis zur 3. Woche nach der Infektion zu bewerten. Bis zu diesem Zeitpunkt haben in meinen Versuchen auch die geimpften Tiere eine stark ausgeprägte Immunität gezeigt, so daß ein hoher Prozentsatz der Mäuse gegen eine letale Infektion geschützt werden konnte. Die Adsorbat-Impfstoffe haben dabei nicht schlechter abgeschnitten als der Lebendimpfstoff Buck 19. Zur gleichen Zeit betrug die Überlebensrate bei der Kontrollgruppe nur 6 %. -

Die Ergebnisse nach 5 Wochen und länger bieten meines Erachtens vor allem einen Maßstab für die Depotwirkung der Impfstoffe bzw. für die Dauer der durch sie verursachten Antikörperbildung. Auch die 6 Wochen post infect. aus der Milz ermittelten Keimzahlen lassen sich hiermit in Zusammenhang bringen. Die Gruppe Buck 19, die am Ende des Versuchs die höchste Überlebensrate besitzt (58 %), ergab bei der Keimzahlermittlung den geringsten Wert mit 500 000 Keimen, dann folgte die Gruppe Lembke mit 50 % Überlebenden und 860 000 Keimen und die Gruppe Warthausen mit 28 % Überlebenden und 940 000 Keimen. Bei den nicht immunisierten Kontrolltieren wurde ein Keimgehalt von 3 200 000 ermittelt. Ein Vergleich dieser Zahlen zeigt, daß die Unterschiede bei immunisierten Tieren eigentlich relativ gering sind. Die Keimzahlen unterscheiden sich aber deutlich von den bei den Kontrolltieren ermittelten Werten, was als ein weiterer Beweis für die immunisierenden Eigenschaften der geprüften Vaccinen angesehen werden kann.

V. Zusammenfassung

An jeweils 50 Mäusen prüfte ich die Wirksamkeit von 2 Brucella abortus Adsorbatimpfstoffen (Abortus Bang-Adsorbatimpfstoff "Warthausen", Abortus Bang-Adsorbatimpfstoff "Lembke") und einem Brucella abortus Lebendimpfstoff "Buck 19". Nach zweimaliger subkutaner Impfung im Abstand von 10 Tagen wurde eine intraperitoneale Testinfektion mit einer letalen Dosis einer hochvirulenten Brucella abortus Kultur durchgeführt. Die Versuche ergaben folgendes:

- 1.) Die schutzgeimpften Tiere überlebten zu einem hohen Prozentsatz die Infektion. 2 Wochen nach der Testinfektion lebten bei der Versuchsgruppe "Lembke" noch 42 Mäuse (84 %), bei der Gruppe "Warthausen" noch 48 Mäuse (96 %) und bei der Gruppe "Buck 19" noch 47 Mäuse (94 %). Die 50 Kontrolltiere starben zum größten Teil innerhalb 6 Tagen, so daß nach 2 Wochen nur noch 3 Mäuse (6 %) am Leben waren.
- 2.) Im weiteren Verlauf der Beobachtung war ein Nachlassen des Impfschutzes festzustellen. Dabei traten zwischen den einzelnen Impfstoffen gewisse Unterschiede auf.
- 3.) Für den ungleichen Abfall des Impfschutzes in den einzelnen Versuchsgruppen wird die verschiedenartige Depotwirkung der einzelnen Impfstoffe bzw. die mehr oder weniger protrahierte Antikörperbildung verantwortlich gehalten.
- 4.) Sowohl bei den gestorbenen Mäusen als auch bei den überlebenden und nach 6 Wochen getöteten Tieren war der bakteriologische Befund stets positiv.
- 5.) Keimzahlbestimmungen in den Organen der überlebenden Mäuse ergaben bei den schutzgeimpften Tieren wesentlich geringere Werte als bei den nicht-geimpften Kontrolltieren.

VI. Literatur

1. Albien: Tierärztl. Mitt. 1937, 103; 1942, 107
2. Bang: Arch. Tierhk. 1897, 312
3. Bang und Stribold: Zbl. Tiermed. 1897, I, 241
4. Barnes: J.Amer. Vet. Med. Assoc. 1925, 54
5. Bernam, Beach und Irwin: Amer. J. Vet. Res. 13, 351 (1952)
6. Birch und Huddleson: zit. nach 24
7. Buck und Cotton: J. Amer. Vet. Med. Assoc. 84, 329 (1934)
8. Caldwell, Neid, Parker und Medlar: J. Amer. Vet. Med. Assoc. 84, 75 (1934)
9. Campbel und Rodwell: J. Comp. Path. Therap. 55, 277 (1946)
10. Catalano: zit. nach 24
11. Cominotti: Deutsch. Tierärztl. Wschr. 1931, 465
12. Demnitz: Vet. med. Nachr. 1938
13. Diernhofer: Deutsch. Tierärztl. Wschr. 1938, 659
14. Diernhofer: Wien. Tierärztl. Mschr. 1953, H. 5
15. Dubois: zit. nach 24
16. Erwin und Hunt: J. Amer. Vet. Med. Assoc. 109, 1966 (1937)
17. Mc Ewan: J. Comp. Path. Therap. 49, 37 (1936); 52, 129 (1939)
18. Frahm und Lembke: Kiel. Milchw. Forsch. Ber. 4, 215-232 (1952)
19. Frahm und Lembke: Zbl. Bakter. I Orig. 1955, 162
20. Frenzel und Szymanowski: Zbl. Bacter. I Orig. 129, 455 (1931)
21. Giltner, Ward und Huddleson: J. Amer. Vet. Med. Assoc. 74, 855 (1929)
22. Götze und Wagener: Vorschläge und Wege zur Bekämpfung des Abortus Bang, Hannover 1954
23. Hart und Carpenter: J. Amer. Vet. Med. Assoc. 64, 37 (1923)

24. Hausmann: Entwicklung und Produktion neuer Adsorbat-
vaccinen, München 1949, Habil. Schrift
25. Hausmann: Berlin. Münch. Tierärztl. Wschr. 1949, 106
26. Hutyra-Marek-Manninger: Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere,
10. Aufl., Jena 1954
27. Kress: Wien. Tierärztl. Mschr. 25, 208 (1938), 34, 636
(1938), Deutsch. Tierärztl. Wschr. 1938, 661
28. Kitzelmann: zit. nach 24
29. Lembke und Körnlein: Zbl. Bakter. I Ref. 147, 449 (1949/50)
" " Zbl. Bakter. I Orig. 152, 231 (1947)
" " Südd. Mol. Zeitg. 70, 928 (1948)
30. Lisbonne: zit. nach 24
31. Mingle: Ref. Vet. Med. 1951, 329
32. Nielsen und Pederson: Münch. Tierärztl. Wschr. 1934, 571, 583
33. Parnas: Ref. Vet. Med. 1951, 492
34. Preskott: zit. nach 24
35. Roman: zit. nach 24
36. Rolle: Tierärztl. Umschau 1953, 15/16
37. Rolle: Deutsch. Tierärztl. Wschr. 1932, 748
38. Rolle: Deutsch. Tierärztl. Wschr. 1933, 707
39. Saceghan: zit. nach 24
40. Seelemann: Kiel. Milchw. Forschb. 3, 709 (1951)
41. Seelemann: Milchwiss. 5, 221 (1950)
42. Seelemann: Mh. Tierhk. 3, 360 (1951)
43. Stein: Deutsch. Tierärztl. Wschr. 1933, 1794
44. Schindler: Übersicht über die von dem vereinigten Fachaus-
schuß für Brucellose der WHO/FAO angegebenen
Richtlinien für die Diagnose und Bekämpfung
der Brucellose - Behringwerke Marburg/Lahn 1954

45. Thomson: Deutsch. Tierärztl. Wschr. 1932, 595; 1936, 790
46. Traub: Mh. Vet. Med. 3, 89 (1948)
47. Verwey und Scheidy: J. Amer. Vet. Med. Assoc. 55, 277 (1946)
48. Velu und Zottner: zit. nach 24
49. WHO: zit. nach 44.

Am Schluß meiner Arbeit möchte ich Herrn
Professor Dr. M e y n und Herrn Dr.
S c h l i e s s e r für die freundliche
Unterstützung und Anleitung herzlich dan-
ken.



Lebenslauf

Am 11. Januar 1931 wurde ich in Stuttgart als Sohn des Lokomotivführers August Doh und seiner Ehefrau Luise, geborene Hilt, geboren. Die Schule besuchte ich in Schorndorf und in Schwäb. Gmünd, wo ich 1951 das Abitur ablegte. Im Wintersemester 1952/53 begann ich in München das Studium der Tiermedizin. Im Jahr 1957 legte ich das tiermedizinische Staatsexamen ab.

1885-1886

In the summer of 1885, the
the following table shows the
large number of persons who
the in summer and in winter
the total number of persons
the following table shows the
the table for the summer of 1885.

